

## 正常ラット口蓋粘膜におけるメルケル細胞の脱落と アポトーシスの有無について

熊上 亮, 立花 民子

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第二講座

(主任 名和橙黄雄 教授)

(受付 2003年10月9日)

(受理 2003年10月31日)

**Abstract** The life span of Merkel cells (MCs) in normal epithelia is not known. During the course of a previous study we found that the numerical density of MCs in the postrugal field (PRF) of the rat hard palate is very low in adults compared to juveniles. We also noticed that PRFs of premature rats contain many ectopic MCs in epithelial surface layers. It is of interest to know whether the reduction of MC density in PRFs is related to expansion of the area of PRFs or to the disappearance of MCs from the epithelium, and also whether the ectopic MCs mean cell turnover accompanied by apoptosis. Therefore, we examined changes of numbers and numerical densities of MCs in PRFs of rats of various days of age. Apoptosis of ectopic MCs was examined by a fluorescence nick end labeling combined with immunohistochemistry for anti-cytokeratin 18. It was found that MCs in PRFs are reduced not only in numerical density but also in number during prematuration stages of rats. There were no MCs that had a nucleus with nick end label, not only in surface layers but also in basal layers of PRF epithelium. It was concluded that a large number of MCs are lost from epithelia of growing rat PRFs by desquamation and apoptosis is probably irrelevant to this phenomenon.

**Key words** desquamation of Merkel cells, rat palatine mucosa, apoptosis

### 緒 言

メルケル細胞は脊椎動物の皮膚や口腔粘膜の上皮基底層に分布する非角化細胞であるが、その機能、発生、及び寿命についてはいまだ不明な点が多い。成熟した哺乳類の皮膚においては、大半のメルケル細胞は Type I 知覚ニューロンの終末と接合し、シナプス側の細胞質に直径100nm 前後の有芯顆粒を含むことや、細胞表面に触覚様突起を有するなどの点から、触覚

受容細胞と見なされてきた<sup>1-4)</sup>。しかし、哺乳類の口腔粘膜には神経と接合していないメルケル細胞も少なからず存在することか知られている<sup>5-8)</sup>。非神経接合型のメルケル細胞の機能は十分には分かっていないか、我々は、これらの細胞か、主に粘膜固有層に向かって有芯顆粒を含む細胞質突起を出しており、突起の先端部で顆粒の開口放出像が観察されることから、何らかの分泌機能を果たす可能性を示唆してきた<sup>7,8)</sup>。

ラットの硬口蓋は解剖学的に4つの異なる部

A study on the existence of desquamation and apoptosis of Merkel cells in the normal rat palatine mucosa

Ryo KUMAKAMI and Tamiko TACHIBANA

Department of Oral Anatomy II, School of Dentistry, Iwate Medical University,  
1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

分に分けられる。すなわち, 1) 切歯乳頭を含む口腔入口の天蓋部, 2) 2条の厚い横口蓋ヒタを有する臼歯前方域(歯隙部), 3) 5条の薄い横口蓋ヒタを含む臼歯間部, 及び4) 口蓋ヒタ後方域である<sup>9)</sup>。口蓋ヒタ後方域 (postrugal field, PRF) は小さな三角形の領域で (Fig 1 A), 成熟ラットではその口腔表面に多くの糸状乳頭様角質突起が発達し, 突起間の上皮には上皮稜がよく発達している (Fig 1 B)。

Tachibana ら<sup>7, 10)</sup>は, ラット PRF 上皮稜の基底層にはメルケル細胞が豊富に分布しており, その大半は非神経接合型であることを報告している。立花はその研究の過程で, ある時期のラットの PRF 上皮には有棘層から表層にかけて多くのメルケル細胞が異所性に分布することや, 生後2か月以上を経過し性的成熟に達したラットでは, 幼弱ラットに比べて PRF 内のメルケル細胞密度が著しく低い傾向があることに気づいた (立花, 未発表)。

異所性のメルケル細胞は, オトカイ神経切断後のウサキ口唇上皮<sup>11)</sup>や老人の口蓋上皮<sup>8)</sup>では観察されたことかあるか, 正常な動物においてはこれまで報告されていない。ラット PRF における多数の異所性メルケル細胞の出現や成体における細胞密度の減少傾向は, メルケル細胞がラットの生後発達過程において脱落消失することを暗示しており, メルケル細胞の寿命や細胞更新について考える上で非常に興味深い現象である。しかし, メルケル細胞の密度変化は, PRF の面積拡大に伴う単純な相対変化を示している可能性もあることから, 精査が必要であると考えられる。

近年, 生理的細胞死 (アポトーシス) は, 発生中あるいは成熟した組織において, 不要になったり障害されたりした細胞を排除する機構として注目されている<sup>12)</sup>。メルケル細胞がアポトーシスを起すか否かは未だ十分証明されていないが, Moll ら<sup>13)</sup>はヒト皮膚のメルケル細胞が bcl-2 遺伝子産物の免疫組織化学陽性反応を呈することを報告している。bcl-2 遺伝子はアポトーシス阻止遺伝子である<sup>14)</sup>ことから, Moll

ら<sup>13)</sup>は, メルケル細胞が神経細胞と同様に長い寿命をもつ細胞であると示唆している。したがって, ラットの PRF 中にみられる異所性メルケル細胞がアポトーシスを起こしているかどうかを検証することには意義があると思われる。

以上の点から, 本研究では, ラット発育期から成熟期にかけての PRF におけるメルケル細胞密度の変化について精査し, さらに異所性メルケル細胞がアポトーシスを起しているか否かについて組織化学的に検討した。

## 材料と方法

### 材料

事前の予備実験において, 同一齢のラット間では PRF におけるメルケル細胞の分布傾向に目立った性差が認められなかったため, 研究には成熟段階の異なる38頭のラットを雌雄の別なく使用した。生後14~28日のラットは妊娠ラットを購入して岩手医科大学実験動物センターにおいて室温と照明をコントロールした環境下において出産, 飼育された。生後30日~90日のラットは離乳後の幼弱個体を購入し, 屠殺まで岩手医科大学実験動物センターにて同一条件下で飼育した。

各動物は生後14, 21, 28, 30, 45, 60, 90日齢でペントバルビタール麻酔剤 (50mg/kg) の腹腔内投与により深麻酔し, 0.01M リン酸緩衝4%パラフォルムアルテヒト溶液で灌流固定した。固定後の動物は2群に分け, 以下のごとく試料を調整した。

第1群 14~28日齢の全ての個体と60日および90日齢ラットの一部から, 臼歯間部口蓋と軟口蓋の一部を含む硬口蓋を, 口蓋骨ごと採取し, 更に4℃で一週間, 灌流液と同じ固定液で固定した。その後標本はキ酸-クエン酸脱灰液で脱灰し, パラフィンに包埋した。

第2群 生後30日と45日齢ラットの全個体および60日と90日齢ラットの一部から前述の様に口蓋を摘出した後, 実体顕微鏡下で鋭利なメスとピンセットを用いて PRF 粘膜のみを庄

意深く単離した。単離粘膜はさらに4°Cで一晩、灌流液と同じ固定液で固定し、パラフィン包埋標本とした。

#### メルケル細胞の検出と計測

第1群の標本のPRF中央部付近から厚さ10 $\mu$ mの不連続な矢状断切片を作製し、シランコート・スライドクラスに貼付した。第2群のパラフィン包埋標本は連続7 $\mu$ m厚の前頭断切片とし、全切片をFischer Scientific社製キャピラリーキャップ・スライドに貼付した。

スライド上の切片は、脱パラフィン後室温にて30分間0.3% $H_2O_2$ -メタノール溶液に浸漬し、内在性ペルオキシダーゼ阻害を行った。切片は蒸留水にて洗浄し、さらに0.2%Triton X-100PBS溶液に1時間浸漬して細胞膜のdetergent処理を行なった。リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で洗浄後、切片を室温10分間トリプシンで消化して抗原性賦活を行った。続いてPBSで洗浄し、切片を希釈正常ウマ血清にて室温30分間処理して非特異性反応を阻止した後、1/100に希釈したmonoclonal抗ヒトcytokeratin 18抗体(CK18 ARPI社)と4°C一晩反応させた。

抗原-抗体反応後の切片は、Vector社製VECTASTAIN ABC Kitを用いてavidin-biotincomplex法による反応産物の増幅後、diaminobentidin(DAB)反応により可視化した。キャピラリーキャップ・スライドに貼付した連続切片は、Fischer Scientific社製Probe-on Slide holderに2枚1組にしてセットし、同社製マイクロプロフ・インキュベーター上で20枚ずつを一括染色した。

第1群では切片中のPRFの粘膜表面の長さを光学顕微鏡で測定し、PRF上皮中の有核メルケル細胞の数と粘膜表面長から単位粘膜上皮長当たりのメルケル細胞数を算出した。1個体につき10~20枚の切片の平均値をその個体のメルケル細胞密度とした。

第2群では、全連続切片中の細胞質突起を除く、全てのメルケル細胞断面の数を数え、その半数を1PRF当りのメルケル細胞数とした。その根拠は、ラットのメルケル細胞の平均的サ

イズは7 $\times$ 15 $\mu$ mであり、PRF内における細胞の方向性は不定であるため、7 $\mu$ m厚の切片にメルケル細胞の全体が含まれる確率は25%、2分の1が含まれる率は50%、3分の1が含まれる確率は25%であることによっている。統計学的有意差はSigma Plot Computer Softwareを用いて独立t検定により検定した。

#### アポトーシス細胞の検出

第2群の標本の中から30日齢ラット1個体の標本をアポトーシス検出に使用した。シランコートスライドに貼付した4 $\mu$ m厚のパラフィン切片に対し、MBL社製MEBSTAIN Apoptosis Kitをもちいて、以下のようにしてDNA Nick End Labelingを施した。

脱パラフィンした切片を37°C30分間PBSに浸漬した後、37°C30分間Proteinase K(1/100希釈)で消化処理した。蒸留水にて洗浄後、切片をTdT buffer IIに浸漬し、続いてTdT buffer II, FITC-標識dUTP, およびTdT(terminal deoxynucleotidyl transferase)を18 $\cdot$ 1 $\cdot$ 1の割合で混合した反応液で37°C60分間反応させた。この後、切片はTris-HCl bufferとPBSで漸次洗浄後、非特異的IgGの沈着を阻止するために希釈正常ウマ血清に浸漬した。続いて切片は50倍に希釈したCK18抗体と37°C, 3時間反応させた。PBSにて洗浄後、切片はAlexa-594で蛍光標識した抗マウスIgG(5 $\mu$ g/ml)と37°C, 90分間反応させ、さらにPBSで洗浄後親水性封入剤にて封入した。標本はOLYMPUS社製共焦点レーザー走査顕微鏡をもちいて2波長チャンネル法にて観察した。アポトーシス検出に対する陽性対照として、研究室保存の小腸のパラフィン包埋ブロックから切片を作成し、口蓋粘膜標本と同様にNick End Labeling法を施行した。

## 結 果

#### PRFの組織構造とメルケル細胞の分布

生後14日のラット口蓋PRFでは、口腔表面及び上皮基底面はどちらも緩い波状の凹凸を示し、構造的に未熟な様相を示していた(Fig. 2

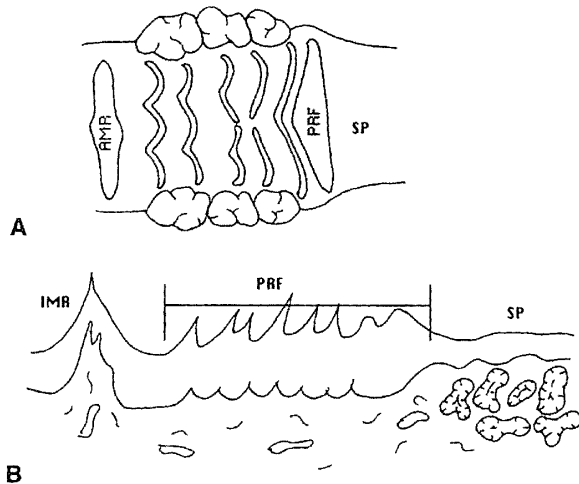


Fig 1 Schematic illustrations of the surface aspect (A) and longitudinal section (B) of the postrugal field (PRF) of the rat hard palate. AMR, antemolar ruga; IMR, intermolar ruga; SP, soft palate

A)。この時期, わずかの CK18免疫陽性細胞 (メルケル細胞) が上皮基底層に検出された (Fig, 2 A)。生後21日では, PRF に糸状乳頭様突起が明瞭となり, 上皮基底層にも上皮稜構造が明瞭となってきたか, 糸状乳頭様突起の先端部は未だ鈍角的で, 表層の角化も不十分であった (Fig, 2 B)。この時期, 上皮稜基底層にはメルケル細胞がかなり増加しているのか認められた (Fig, 2 B)。

生後28日のラットでは, PRF 上皮の糸状乳頭先端部は鋭角的になり, 角質層が厚くなっていた (Fig, 3 A)。上皮稜基底層のメルケル細胞数は著しく増加し, 加えて有棘層や表層付近にも異所性に多数のメルケル細胞が観察された (Fig, 3 A)。基底層のメルケル細胞は球状から多角体形まで様々な外形を呈していたか, 異所性のメルケル細胞は全て球状または卵円形で, 平滑な表面観を呈するものはかりであった (Fig, 3 A)。この時期, 粘膜固有層には CK18 陽性を示す細胞は全く観察されなかった。生後30日齢ラット PRF のメルケル細胞分布はほぼ28日齢の場合と同様であった。

生後45~90日齢のラットでは, PRF 上皮のメルケル細胞密度は28日齢に比べて著しく減少しているように見受けられた (Fig, 3 B, 3 C)。

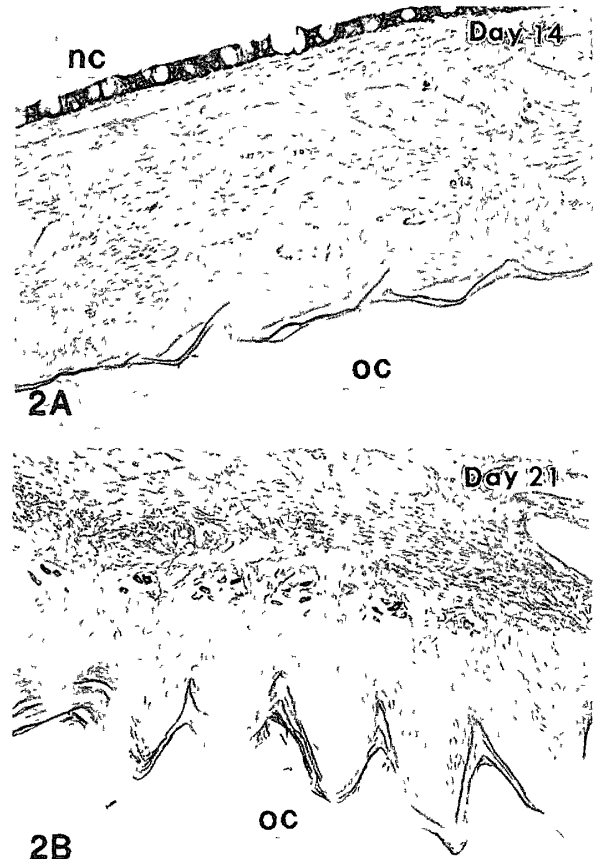


Fig 2 Longitudinal sections of the rat PRFs of 14 and 21 days of age stained by immunohistochemistry using anti-human CK18. It is seen that only few numbers of CK18-immunoreactive cells (Merkel cells, MCs) can be seen in the basal layer of epithelial ridges in the immature PRF at 14 days of age (2 A). At 21 days of age, increased number of MCs is seen in the basal epithelial layer of developed epithelial ridges of the PRF (2 B). nc: nasal cavity, oc: oral cavity X 85

しかし, 90日齢の1個体において, 他の同齢個体に比べてはるかに多くのメルケル細胞を含むのか認められた (Fig 3 D)。

#### PRF におけるメルケル細胞の密度変化

実験第1群における PRF 粘膜上皮の単位表面長当たりのメルケル細胞密度を生後日数別に比較したグラフを図4に示した。生後21日に比べて28日にはメルケル細胞密度が急激に増加し, その後有意に減少するのか認められる (Fig 4)。

実験第2群における1 PRF 当りのメルケル細胞数の生後変化を比較したグラフを図5に示

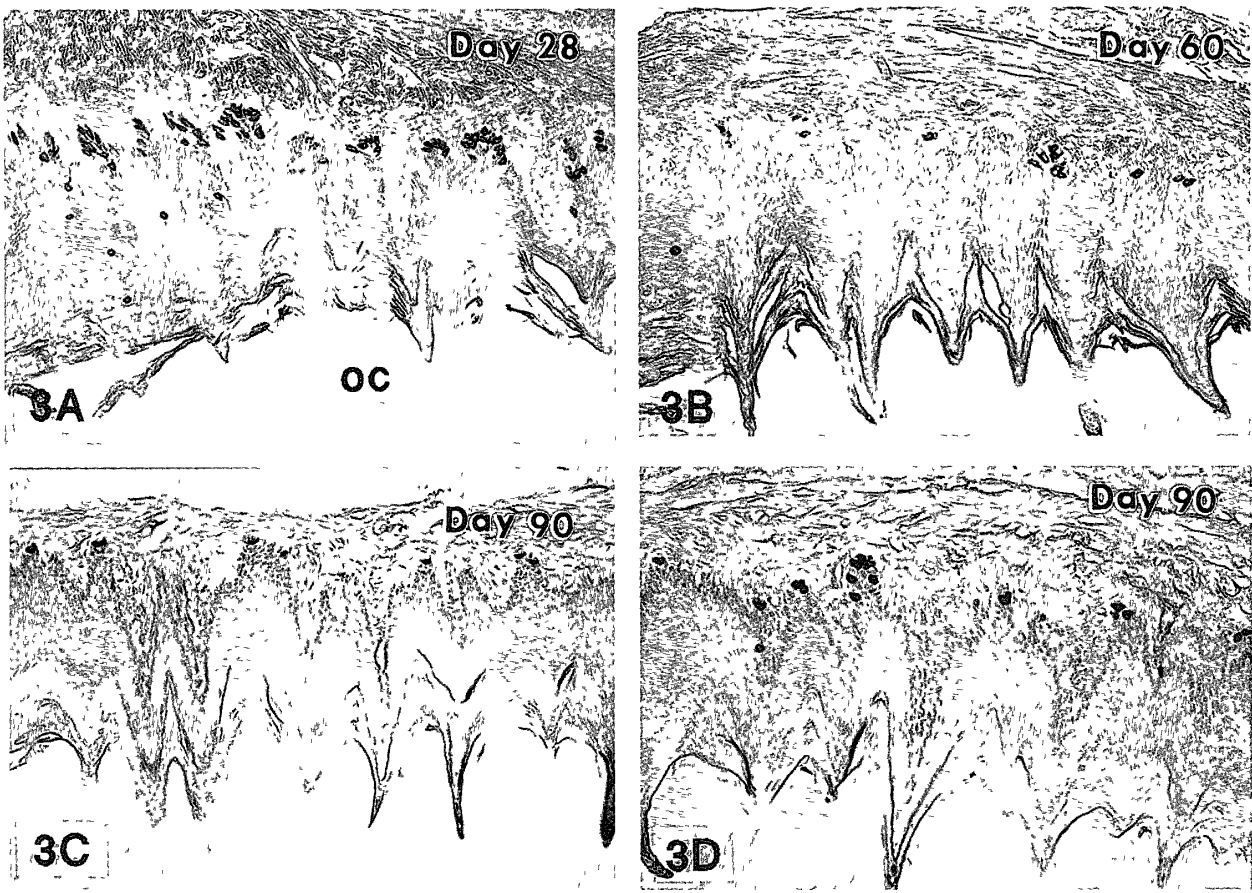


Fig 3 PRFs of rats of different days of age stained by immunohistochemistry using anti-human CK18. PRF of 28 days of age contains abundant polymorphic MCs in its basal layer of epithelial ridges and many ectopic MCs with spherical figures in surface cell layers (3 A). Decreased numbers of typical MCs in epithelial ridges as well as ectopic MCs in surface layers can be seen at 60-day and 90-day rats (3 B, C). However, one case of 90-day rat group contained a great number of typical and ectopic MCs than other cases in the same age group (3 D). oc: oral cavity X 100

した。調査日齢群間で PRF 中のメルケル細胞数の平均値を比較すると、ほぼ日齢に反比例して細胞数が減少するのか認められた (Fig. 5)。しかし、90日齢群では際立って多い細胞数を含む1個体の存在により、30日齢群に比較して統計学的有意差を得られなかった (Fig. 5)。PRF を二等辺三角形と見なして、その表面積を固定後の粘膜の底辺と高さの計測値から算出すると、生後30日齢では平均 $25\text{mm}^2$ 、90日齢では平均 $3\text{mm}^2$ であった。

#### 異所性メルケル細胞とアポトーシス

この実験では30日齢ラット口蓋のパラフィン包埋切片を使用したか、切片1枚当りに1~数個の異所性メルケル細胞しか観察出来なかった (Fig 6)。そこで可及的に多くの切片に対して

Nick End Labeling 法を施し、陽性を示す核を含むメルケル細胞を検索した。全体で、抗-CK18抗体に陽性反応を示す333個の基底層メルケル細胞と39個の異所性メルケル細胞を観察したが、それらの核はいずれも Nick End Labeling 陰性であった (Fig 6)。しかし、PRF 粘膜固有層内の幾つかの細胞と、上皮の角質層直下の細胞の幾つかは常に Nick End Labeling 陽性核を含むのか認められた (Fig 6)。陽性コントロールとして染色した小腸の絨毛上皮には多数の Nick End Labeling 陽性細胞が認められた (図示しない)。

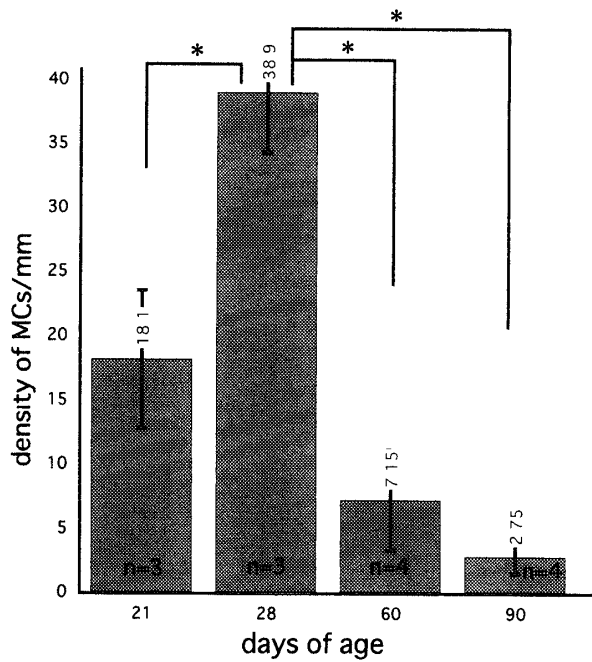


Fig 4 Age changes of the density of MCs in posttrugal fields of rats assessed with arbitrarily selected sections Mean  $\pm$  SE Impaired *t*-test compared to the mean value at 28-day group showed that values at 21, 60 and 90 days were significantly low at the 0.05 level (\*)

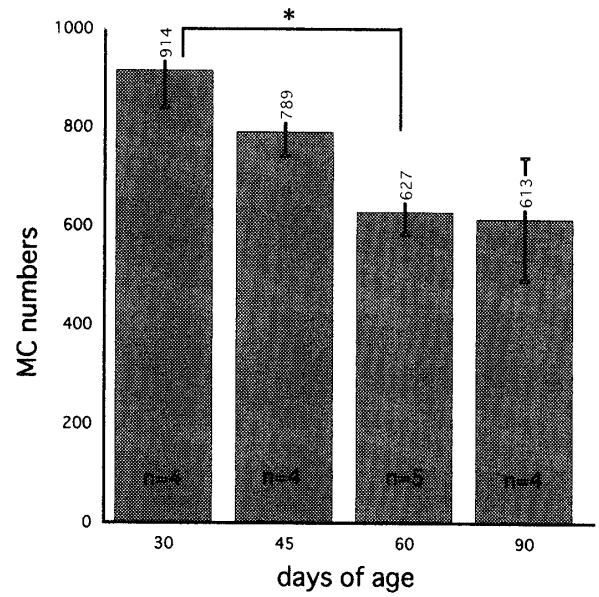


Fig 5 Age changes of MC numbers in the rat PRFs assessed with serial sections of isolated mucosae Mean  $\pm$  SE Impaired *t*-tests compared to mean values at 30 days of age showed that only the mean value at 60 days of age was significant at the 0.05 level (\*)

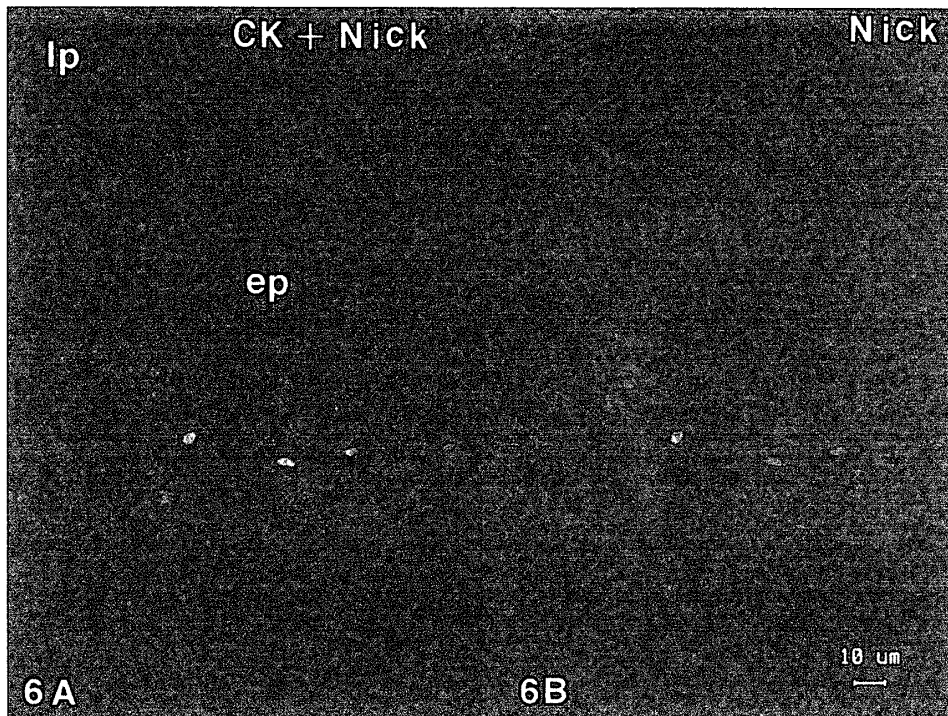


Fig 6 Partial frame demonstration of DLSM images of the PRF of a 30 day-old rat doubly labeled with nick end labeling and immunohistochemistry for anti-CK18 Several MCs in the basal epithelial layer and one MC in the subsurface layer are labeled with anti-CK18 (red color) (6 A) Three nuclei of putative keratinocytes in the subsurface layer are labeled with nick end labeling (green color) (6 A, B) Note that no MC has nucleus with nick end label. **ep**, epithelium; **lp** : lamina propria, **oc** : oral cavity

## 考 察

Tachibana ら<sup>10)</sup>はラット PRF のメルケル細胞は生後10日目頃から出現し始め、28日頃までに極めて密度が高くなることを報告した。本研究では、生後21~90日までのラットについて、PRF におけるメルケル細胞密度と細胞の実数を調べた。その結果、メルケル細胞数は生後30日を過ぎる頃から減少し、成長に伴う PRF 面積の拡大とも相俟って細胞密度が激減することか明らかになった。正常な動物の上皮において、メルケル細胞の実数が減少することを明らかにしたのは本報告が初めてである。

本研究において、PRF におけるメルケル細胞の減少がみられる時期には、多くの異所性のメルケル細胞が上皮有棘層や顆粒層中に観察されたが、粘膜固有層内には観察されなかった。このことは、メルケル細胞が上皮表面から脱落することを示唆しており、異所性メルケル細胞が脱落過程にある細胞であることは明らかであろう。しかし、PRF における異所性メルケル細胞の表面はおしなべて平滑であり、細胞質突起を有していなかったことから、積極的な細胞遊走による脱落とは考え難い。何らかの事情で基底層に留まることか出来なくなった細胞か、周辺のケラチノサイトと共に表層に押し上げられて脱落することか考えられる。

メルケル細胞の脱落の原因かアポトーシスによる細胞の排除であるか否か、という点は興味か持たれるところである。すでに述べた様に、メルケル細胞における bcl-2 遺伝子産物の発現は、この細胞か神経細胞と同様に長い寿命をもつことを暗示すると考えられている<sup>13)</sup>。今回我々かもちいた Nick End Labeling 法は、アポトーシスの一局面を捉えているに過ぎないと言われている。しかし、基底層のメルケル細胞は勿論のこと、脱落中の異所性メルケル細胞の全てに DNA の断片化か検出されなかったことから、アポトーシスを起した細胞か脱落に陥っているとは考え難い。

Tachibana ら<sup>11)</sup>は、オトガイ神経切断後にウ

サキ口唇上皮のメルケル細胞の一部か表層に移動して脱落することを見だし、メルケル細胞か基底層に留まるためには神経との接合が必要であると推論している。神経接合型メルケル細胞は多くの場合球状あるいは卵円形を呈し、平滑な外形を有している<sup>7)</sup>。したかつて、ラット PRF において今回観察された異所性のメルケル細胞か何らかの原因で接続神経の支配を失った細胞である可能性は否定出来ない。しかし、この部位に分布するメルケル細胞の多くか非神経接続型である<sup>7)</sup>ことを考えれば、分泌機能を営むと推測される非神経接合型メルケル細胞に何らかの変化か生じて外形か変化し、基底層に留まり得なくなった可能性も考慮される。

ラットは生後約2か月で性的成熟に達する。性的成熟に達する以前の成長期に PRF から多数のメルケル細胞か脱落するという現象は興味深い。胎生期の皮膚では、非神経接続型メルケル細胞かケラチノサイトの分化や皮膚付属器の形態形成、末梢神経の誘導などに関与している可能性か考えられている<sup>2, 3, 15-19)</sup>。ラットの口蓋のメルケル細胞は末梢神経の上皮への侵入よりやや遅れて出現する<sup>10)</sup>ことから、この細胞か末梢神経の誘導に積極的に関与する可能性は低い。したかつて、神経誘導の役割を果し終えた不要なメルケル細胞か排除されているとは考え難い。一方、PRF に糸状乳頭様突起か形成され十分に発達する時期と、メルケル細胞密度か高くなる時期とはほぼ一致している。糸状乳頭様突起か十分に完成して余剰となった非神経接合型メルケル細胞か、その役割を終えて脱落へと導かれていく可能性も十分に考えられる。

しかし、近年、メルケル細胞の生存や維持に神経成長因子である NT-3 が密接に関係していることか明らかになってきた<sup>20)</sup>。PRF 上皮における NT-3 の発現量の減少、あるいはメルケル細胞自体における NT-3 受容体の変質や減少かこの領域でのメルケル細胞脱落の要因である可能性も考えられる。今後免疫組織化学や遺伝子組織化学によりこの点についても検討する必要かあると思われる。

最後に、今回の研究において、90日齢の成熟ラット1個体のPRFにおいて、他個体よりも著しく多くのメルケル細胞が含まれていたことは興味深い現象である。これは単なる細胞脱落の遅延を示すに過ぎないかも知れないが、メルケル細胞が何らかの理由で過剰に再生産されたことを示す可能性もあるからである。

メルケル細胞の分裂能に関しては、MerotとSaurat<sup>21)</sup>が1987年に分裂像とする電顕像を報告したか、その後Mollら<sup>22)</sup>やTachibanaら<sup>10)</sup>の細胞分裂関連因子の組織化学的発現の検討により否定されている。しかし、ある種の皮膚病変では、メルケル細胞のhyperplasiaが観察されている<sup>23, 24)</sup>ことから、表皮や口腔上皮にはメルケル細胞を再生産する潜在力があることが予想される。実際、老人の口蓋粘膜には常に多少の異所性のメルケル細胞が含まれている<sup>3)</sup>にもかかわらず、高齢者であってもメルケル細胞が著しく減少しているという印象は受けない(立花, 未発表データ)。

もし、成熟した哺乳類の口腔上皮がメルケル細胞を再生産する能力を維持しているとすれば、新しいメルケル細胞は未だ特定されていない上皮性幹細胞から分化するはずである。幹細胞はとれか、幹細胞からのメルケル細胞の分化を制御しているメカニズムは何か、など多くの追及すべき課題が残されている。メルケル細胞を多く含むラットのPRFは、この分野の将来の研究において有用な材料となり得るであろう。

## 結 論

ラット口蓋粘膜におけるメルケル細胞密度の生後変化について検討した結果、以下のことが明らかになった。

- 1) メルケル細胞は生後1か月位までに最高密度に達し、その後性成熟に達する前に激減する。
- 2) メルケル細胞の減少は表層移動による脱落により生じるか、細胞は積極的に遊走するのではなく、ケラチノサイトの表層移動に伴い受動的に表層に押し上げられる。

的に表層に押し上げられる。

- 3) 脱落中のメルケル細胞にはアポトーシスを示唆するDNAの断片化は認められない。

本研究の一部は平成14年度オープンリサーチプロジェクト補助金によるものである。

本論文の要旨は第56回岩手医科大学歯学会例会(2003年7月, 盛岡)において発表した。

## 文 献

- 1) Iggo, A, and Findlater, G S A review of Merkel cell mechanisms Hamann, W, Iggo, A (eds) Sensory receptor mechanisms World Scientific Publ Singapore, pp117-131, 1984
- 2) Hartschuh, W, Weihe, E, and Reinecke, M The Merkel cell Bereiter-Hahn, A G J, Matoltsy, A G, Richards, K S (eds) Biology of the integument 2 Springer-Verlag, Berlin, pp605-620, 1986
- 3) Tachibana, T The Merkel cell recent findings and unresolved problems *Arch Histol Cytol* 58 379-396, 1995
- 4) Ogawa, H The Merkel cell as a possible mechanoreceptor cell *Prog Neurobiol* 49 317-334, 1996
- 5) Ramieri, G, Panzica, G C, Vighetti-Panzica, C, Modica, R, Springall, D R, and Polak, J M Non-innervated Merkel cells and Merkel-neurite complexes in human oral mucosa revealed using antiserum to protein gene product 95 *Arch Oral Biol* 37 263-269, 1992
- 6) Hilliges, M, Astback, J, Wang, L, and Arvidson, K Protein gene product 95-immunoreactive nerves and cells in human oral mucosa *Anat Rec* 245 621-632, 1996
- 7) Tachibana, T, Yamamoto, H, Takahashi, N, Kamegai, T, Shibana, S, Iseki, H, and Nawa, T Polymorphism of Merkel cells in the rodent palatine mucosa Immunohistochemical and ultrastructural studies *Arch Histol Cytol* 60 379-389, 1997
- 8) Tachibana, T, Kamegai, T, Takahashi, N, and Nawa, T Evidence for polymorphism of Merkel cells in the adult human oral mucosa *Arch Histol Cytol* 61 115-124, 1998
- 9) Kuzusov, H, and Sicher, H Anatomy and function of the palate in the white rat *Anat Rec* 114 67-84, 1952
- 10) Tachibana, T, Fujiwara, N, and Nawa, T Postnatal differentiation of Merkel cells in the rat palatine mucosa, with special reference to the timing of peripheral nerve development and



- the potency of cell mitosis *Anat Embryol* 202 359-367, 2000
- 11) Tachibana, T, Sakakura, Y, Ishizeki, K, Iida, S, and Nawa, T Migration of Merkel cells in the labial mucous epithelium of adult rabbits following mental nerve resection *Cell Tiss Res* 223 659-664, 1982
  - 12) Uchiyama, Y Apoptosis the history and trends of its studies *Arch Histol Cytol* 58 127-137, 1996
  - 13) Moll, I, Gillardon, F, Waltering, S, Schmelz, M, and Moll, R Differences of bcl-2 protein expression between Merkel cells and Merkel cell carcinomas *J Cutan Pathol* 23 109-117, 1996
  - 14) Hockenbery, D, Nunez, G, Millman, C, Schreiber, R D, and Korsmeyer, S J Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death *Nature* 348 334-336, 1990
  - 15) Moll, I, Moll, R, and Franke, W W Formation of epidermal and dermal Merkel cells during human fetal skin development *J Invest Dermatol* 87 779-787, 1986
  - 16) Kim, D-K, and Holbrook, K A The appearance, density, and distribution of Merkel cells in human embryonic and fetal skin The relation to sweat gland and hair follicle development *J Invest Dermatol* 104 411-416, 1995
  - 17) Narisawa, Y, Hashimoto, K, and Kohda, K Epithelial skirt and bulge of human fetal vellus hair follicles and associated Merkel cell-nerve complex *Arch Dermatol Res* 285 269-277, 1993
  - 18) Narisawa, Y, Hashimoto, K, and Kohda, K Merkel cells in human fetal eccrine glands *Brit J Dermatol* 129 541-546, 1993
  - 19) Vielkind, U, Sebzda, M K, Gibson, I R, and Hardy, M H Dynamics of Merkel cell patterns in developing hair follicles in the dorsal skin of mice, demonstrated by a monoclonal antibody to mouse keratin 8 *Acta Anat* 152 93-109, 1995
  - 20) Airaksinen, M S, Koltzenburg, M, Lewin, G R, Masu, Y, Helbig, C, Wolf, E, Brem, G, Toyka, K V, Thoenen, H, and Meyer, M Specific subtypes of cutaneous mechanoreceptors require neurotrophin-3 following peripheral target innervation *Neuron* 16 287-296, 1996
  - 21) Merot, Y, Carraux, P, and Saurat, J-H Merkel cell mitoses in vibrissae an ultrastructural study *J Anat* 153 241-244, 1987
  - 22) Moll, I, Zeiger, W, and Scherz, M Proliferative Merkel cells were not detected in human skin *Arch Dermatol Res* 288 184-187, 1996
  - 23) Schulz, T, and Hartschuh, W Merkel cells in nevus sebaceus *Am J Dermatol* 17 570-579, 1995
  - 24) Schulz, T, and Hartschuh, W Merkel cells are absent in basal cell carcinomas but frequently found in trichoblastomas An immunohistochemical study *J Cutan Pathol* 24 14-24, 1997